

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

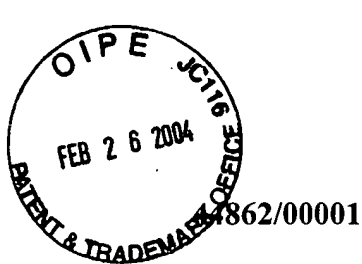
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**



PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of: Jose Andres Morales Garzon et al.

International Application No.: PA/a/2002/011761

International Filing Date: October 30, 2002

Serial No.: 10/695104

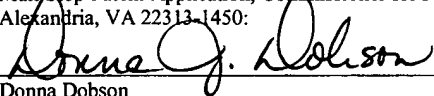
Filed: October 28, 2003

Examiner:

Group:

For: PREVENTION AND TREATMENT OF THE PORCINE
REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS)
USING IMMUNOGLOBULINS OBTAINED FROM EGG
YOLK FROM HENS HYPERIMMUNIZED WITH THE PRRS
VIRUS

Mail Stop Patent Application
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

EXPRESS MAIL CERTIFICATE OF MAILING	
Express Mail Mailing Label No.	
I hereby certify that the papers enclosed herein are being deposited with the United States Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 CFR 1.10 on the date indicated below and addressed to: Mail Stop Patent Application, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450:	
 Donna Dobson	February 23, 2004 Date of Deposit

CLAIMING PRIORITY UNDER 35 U.S.C. §119

Dear Sir:

Applicants, through counsel, hereby claim priority under 35 U.S.C. §119 for Mexican Patent Application No. PA/a/2002/011761, filed October 30, 2002, entitled PREVENTION AND TREATMENT OF THE PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROME (PRRS) USING IMMUNOGLOBULINS OBTAINED FROM EGG YOLK FROM HENS



HYPERIMMUNIZED WITH THE PRRS VIRUS. This Mexican patent application is referred to in the original Declarations submitted in this pending application. A copy of the Mexican patent application is submitted herewith.

Respectfully submitted,

Kristen R. Paris
Registration No. 52,092

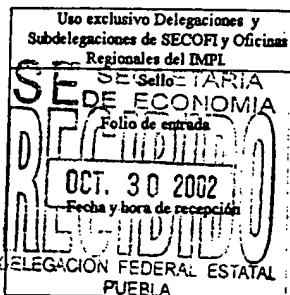
Date: February 23, 2004

LOCKE LIDDELL & SAPP LLP
2200 Ross Avenue, Suite 2200
Dallas, TX 75201-6776
Phone: 214/740-8678
Fax: 214/756-8678



☒ Solicitud de Patente
☐ Solicitud de Registro de Modelo de Utilidad
☐ Solicitud de Registro de Diseño Industrial

☐ Modelo ☐ Dibujo



Uso exclusivo del IMPI
No. de expediente

INSTITUTO MEXICANO DE
LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
Dirección Divisinal de Patentes

Expediente: PR/a/2002/011761
Fecha: 30/OCT/2002 Hora: 00:00
Folio: PR/E/2002/052716



Antes de llenar la forma lee las consideraciones generales al reverso

I DATOS DEL (DE LOS) SOLICITANTE(S)

El solicitante es el inventor(*) ☐ El solicitante es el causahabiente ☒

1) Nombre (s): INVESTIGACIÓN APLICADA S.A DE C.V

2) Nacionalidad (es): MEXICANA

3) Domicilio; calle, número, colonia y código postal:
CALLE 7 NORTE 416
CENTRO, 75700

Población, Estado y País: TEHUACAN, PUEBLA, MÉXICO

(*) Debe llenar el siguiente recuadro 4) Teléfono (clave): (238) 380 3838 5) Fax (clave): (238) 380 3935

II DATOS DEL (DE LOS) INVENTOR(ES)

6) Nombre (s): JOSE ANDRES MORALES GARZON Y EDUARDO LUCIO DECANINI

7) Nacionalidad (es): MEXICANA

8) Domicilio; calle, número, colonia y código postal:
CALLE 18 DE MARZO No. 108 COLONIA ELECTRICISTAS
RETORNO MIGUEL DE CERVANTES No. 103, FRACCIONAMIENTO EL MOLINO

Población, Estado y País: TEHUACAN, PUEBLA, MÉXICO

9) Teléfono (clave): (238) 380 3805 10) Fax (clave): (238) 380 3804

III DATOS DEL (DE LOS) APODERADO(S)

11) Nombre (s): BEATRIZ ADRIANA CEPEDA BARROSO 12) RGP:

13) Domicilio; calle, número, colonia y código postal:
CALLE 29 ORIENTE 218-1
COL. EL CARMEN, 72530

Población, Estado y País: PUEBLA, PUEBLA, MEXICO

14) Teléfono (clave): (222) 240-61-63 15) Fax (clave): (222) 237-18-60

16) Personas Autorizadas:

17) Denominación o Título de la Invención:
"PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO DEL CERDO (PRRS) CON EL USO DE
INMUNOGLOBULINAS OBTENIDAS DE LA YEMA DE HUEVO PROVENIENTES DE GALLINAS HIPERINMUNIZADAS CON EL
VIRUS DE PRRS"

18) Fecha de divulgación previa
Día Mes Año

19) Clasificación Internacional uso exclusivo del IMPI

20) Divisinal de la solicitud
Número

21) Fecha de presentación
Día Mes Año

22) Prioridad Reclamada:
País Fecha de presentación
Día Mes Año No. de serie

Lista de verificación (uso interno)

☐ Comprobante de pago de la tarifa
☐ Descripción y reivindicación (es) de la invención
☐ Dibujo (s) en su caso
☐ Resumen de la descripción de la invención
☐ Documento que acredite la personalidad del apoderado

☐ Documento de cesión de derechos
☐ Constancia de depósito de material biológico
☐ Documento (s) comprobatorio(s) de divulgación previa
☐ Documento (s) de prioridad
☐ Traducción

Bajo protesta de decir verdad, manifiesto que los datos asentados en esta solicitud son ciertos.

BEATRIZ ADRIANA CEPEDA BARROSO
Nombre y firma del solicitante o su apoderado

PUEBLA, PUE, A 25 DE OCTUBRE DEL 2002
Lugar y fecha

FORMATO UNICO DE INGRESOS POR SERVICIOS

ESTE FORMATO ES DE DISTRIBUCION GRATUITA

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

PERIFERICO SUR 104
COL. JARDINES DEL PEDREGAL
DELEG. ALVARO OBREGON
51925 MEXICO, D.F.

R.F.C. IMP 931211 NE1

NUMERO DE FOLIO 2447606-4	NUMERO DE SOLICITUD:	No. PATENTE, REGISTRO O PUBLICACION:
-------------------------------------	----------------------	--------------------------------------

<input type="checkbox"/> PATENTE	<input type="checkbox"/> CERTIFICADO DE INVENCION	<input type="checkbox"/> NOMBRE COMERCIAL
<input type="checkbox"/> MODELO DE UTILIDAD	<input type="checkbox"/> MARCA	<input type="checkbox"/> DENOMINACION DE ORIGEN
<input type="checkbox"/> DISEÑO INDUSTRIAL	<input type="checkbox"/> AVISO COMERCIAL	<input type="checkbox"/> OTROS

SECRETARIA DE HACIENDA Y CREDITO PUBLICO
DIRECCION GENERAL DE INGRESOS
CETLA DE REGISTRO Y PATENTES
IMP 931211 NE1
LA PRIMERA DEPARTAMENTO DE INTELIGENCIA
MINISTERIO DE ECONOMIA

CONCEPTO	ARTICULO TARIFA	INCISO TARIFA	IMPORTE
PAGO POR LA PRESENTACION DE UNA SOLICITUD DE PATENTE DENOMINADA "PREVENCION Y TRATAMIENTO DEL SINDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO DEL CERDO (PRRS) CON EL USO DE INMUNOGLOBULINAS OBTENIDAS DE LA YEMA DE HUEVO PROVENIENTES DE GALLINAS HIPERINMUNIZADAS CON EL VIRUS DE PRRS", ASI COMO LOS SERVICIOS A QUE SE REFIERE EL ARTICULO 38 de la Ley.			5,517.39
50% DE DESCUENTO MICRO Y PEQUEÑA EMPRESA INSTITUCIONES DE INVESTIGACION DEL SECTOR PUBLICO INSTITUCIONES EDUCATIVAS INVENTORES INDEPENDIENTES		TOTAL TARIFAS I.V.A. SUBTOTAL RECARGOS ACTUALIZACION TOTAL A PAGAR	\$ 5,517.39 \$ \$ 827.61 \$ \$ \$ 6,345.00

SECRETARIA DE ECONOMIA
RECIBIDO
OCT. 30 2002
DELEGACION FEDERAL ESTATAL
PUEBLA

DATOS DEL TITULAR O SOLICITANTE
NOMBRE **INVESTIGACION APLICADA, S.A. DE C.V.**
DOMICILIO **7 NORTE #416 COL. CENTRO**
CALLE, NUMERO, COLONIA Y CODIGO POSTAL
C.P. 75700 TEHUACAN, PUE.
POBLACION/ESTADO
R.F.C.
I A P - 811 231 LP 9

USO EXCLUSIVO IMPI
FECHA DE RECEPCION

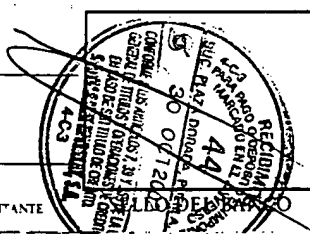
LUGAR
PUEBLA, PUE.
DELEGACION S.E. o I.M.P.I.

LUGAR

FECHA

FIRMA DEL TITULAR O REPRESENTANTE

ORIGINAL CLIENTE/EXPEDIENTE DEL SOLICITANTE



Consideraciones generales para su llenado:

- Este formato de solicitud debe llenarse preferentemente a máquina, no obstante podrá presentarse con letra de molde legible y su distribución es gratuita.
- Este formato de solicitud debe presentarse por triplicado.
- Sólo se recibirá el formato de solicitud debidamente requisitado y en idioma español.
- El formato de solicitud y sus documentos anexos deben presentarse en el Coordinación Departamental de Recepción y Control de Documentos de la Dirección Divisional de Patentes del IMPI, ubicado en Arenal 550, Colonia Tepepan Xochimilco, Delegación Xochimilco, C.P. 16020, México, D.F., en el horario de 8:45 a 16:00 horas de lunes a viernes o en la ventanilla de las Delegaciones o Subdelegaciones Federales de la SECOFI u Oficinas Regionales del IMPI.
- La firma del solicitante debe ser autógrafa en cada formato de solicitud.
- En el formato de solicitud marque con una cruz en el recuadro la solicitud que desea presentar.
- En caso de Registro de Diseño Industrial señale además si se trata de un modelo o un dibujo.
- La denominación o título debe ser connotativa de la invención.
- Si la invención fue divulgada dentro de los doce meses previos a la fecha de presentación de la solicitud, indique la fecha de divulgación y anexe la información comprobatoria que marca el Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial.
- En la solicitud de invención que sea divisional de una solicitud previamente presentada, deberá proporcionar el número de expediente, la figura jurídica y la fecha de presentación de dicha solicitud.
- El derecho de reclamar la prioridad sólo tiene lugar si la presente solicitud ha sido previamente presentada en algún país miembro del Convenio de París para la Protección de la Propiedad Industrial. Proporcionar los siguientes datos:
 - País donde se presentó por primera vez la solicitud, fecha y número asignado a la solicitud en dicho país.
 - Las solicitudes podrán remitirse por correo, servicios de mensajería u otros equivalentes, asimismo se podrán presentar por transmisión telefónica facsimilar en términos del artículo 5º. del Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial.
 - Se autoriza su libre reproducción siempre y cuando no se altere.

Trámite al que corresponde la forma: - Solicitud de Patente, Registro de Diseño Industrial y Registro de Modelo de Utilidad
Número de Registro Federal de Trámites y Servicios: IMPI-00-001

Fecha de autorización de la forma por parte de la Dirección General Adjunta de Servicios de Apoyo del IMPI: 10-XI-00.
Fecha de autorización de la forma por parte de la Comisión Federal de Mejora Regulatoria: 21-XI-00

Fundamento jurídico-administrativo:

Ley de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27-VI-91, reformas D.O.F. 02-VIII-94; 26-XII-97, 17-V-99) arts. 38-47, 50, 52, 54 53, 55, 61.
Reglamento de la Ley de la Propiedad Industrial (D.O.F. 23-XI-94) arts. 5-8, 16, 24-39, 43, 45 y 46.
Acuerdo que establece las reglas para la presentación de solicitudes ante el IMPI (D.O.F. 14-XII-94, reforma 22-III-99) arts. 3-10.
Acuerdo por el que se establecen los plazos máximos de respuesta a los trámites ante el IMPI (D.O.F. 10-XII-96) art. 3 inciso I y VIII.
Acuerdo por el que se da a conocer la tarifa por los servicios que presta el IMPI (D.O.F. 23-VIII-95, reformas 28-XII-95, 10-XII-96, 2-V-97, 4-V-98 y 23-II-99, y 11-X-00) art. 1 inciso a); 9, inciso a) y demás aplicables.
Acuerdo por el que se da a conocer la lista de instituciones reconocidas por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial para el depósito de material genético (D.O.F. 30-V-97).
Acuerdo por el que se dan a conocer los horarios de trabajo del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 31-III-99) art. 3 y 6.

Documentos anexos:

Solicitud de Patente y Registro de Modelo de Utilidad

- Comprobante de pago de la tarifa correspondiente (original y copia)
- Descripción, reivindicación, resumen y dibujo (triplicado)
- Solicitud de Registro de Diseño Industrial
- Comprobante de pago de la tarifa (original y copia)
- Descripción, reivindicación y dibujo o fotografía (triplicado)
- Documentos adicionales que deberán presentarse en su caso:
 - Constancia de depósito de material biológico
 - Acreditación de personalidad del apoderado, en su caso (original)
 - Acreditación del poderdante en el caso de persona moral, señalando el instrumento donde obran dichas facultades y acta constitutiva (original)
 - Documento donde se acredita el carácter del causahabiente o de cesión de derechos (original)
 - Documento comprobatorio de divulgación previa, en su caso (original y copia)
 - Documento de prioridad y su traducción, en su caso (copia certificada expedida por la oficina extranjera)
 - Escrito solicitando el descuento del 50%, cuando corresponda (original)

Criterios de resolución del trámite

- Presentar toda la documentación requerida y pagos de la tarifa conforme a la legislación nacional y convenios internacionales de los que México forma parte.
- Será suficiente el cumplir con los requisitos formales al momento de presentar su solicitud.

Tiempo de respuesta:

El plazo máximo de primera respuesta es de 3 meses. No aplica la positiva ni la negativa ficta.

Número telefónico para quejas:

Contraloría Interna en el IMPI 5624-04-12 ó 13 (directo)
5624-04-00 (conmutador)
Extensiones: 4703, 4705.
Fax: 56-24-04-35
Correo electrónico: buzón@impi.gob.mx

Para cualquier aclaración, duda y/o comentario con respecto a este trámite, sírvase llamar al Sistema de Atención Telefónica a la Ciudadanía-SACTEL a los teléfonos: 5480-20-00 en el D.F. y área metropolitana, del interior de la República sin costo para el usuario al 01-800-00-14800 o desde Estados Unidos y Canadá al 1-888-594-3372.

Número telefónico del responsable del trámite para consultas: 5624 04 00 extensiones 4705 y 4708

Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



DIRECCION DIVISIONAL DE PATENTES.
SUBDIRECCION DIVISIONAL DE PROC.
ADMINISTRATIVOS DE PATENTES.
COORDINACION DEPARTAMENTAL RE-
CEPCION Y CONTROL DE DOCUMENTOS
DE PATENTE

ACUSE DE RECIBO DE TELEFAX

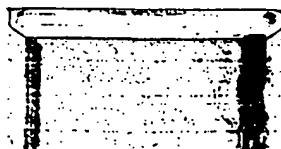
*PARA: LIC. J. FERNANDO SAN MARTIN Y FUENTES
DELEGADO FEDERAL EN PUEBLA
PUEBLA, PUEBLA
FAX 01 222 2379374*

*LIC. W. EDUARDO PALMER BARREDO
COORDINADOR DEPARTAMENTAL DE RECEPCION
Y CONTROL DE DOCUMENTOS.*

*MENSAJE DE FAX: SE LE ENVIA SU NUMERO DE EXPEDIENTE PA/a/2002/011761,
A NOMBRE DE, INVESTIGACION APLICADA S.A. DE C.V., CON TITULO DE SU
INVENTO "PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y
REPRODUCTIVO DEL CERDO (PRRS) CON EL USO DE INMUNOGLOBULINAS
OBTENIDAS DE LA YEMA DE HUEVO PROVENIENTES DE GALLINAS
HIPERINMUNIZADAS CON EL VIRUS DE PRRS".*

SIN OTRO PARTICULAR LE ENVIO UN CORDIAL SALUDO.

*DIRECCIÓN: CALLE ARENAL NUM. 550.- COL. TEPEPAN, XOCHIMILCO.-
DELEGACION XOCHIMILCO.- C.P. 16020.- MÉXICO, DF.- TELEFONO 55554431.- CON
HORARIO DE LUNES A VIERNES DE 8:15 A. M. A 16:15 P. M.*



**PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y
REPRODUCTIVO DEL CERDO (PRRS) CON EL USO DE INMUNOGLOBULINAS
OBTENIDAS DE LA YEMA DE HUEVO PROVENIENTES DE GALLINAS
HIPERINMUNIZADAS CON EL VIRUS DE PRRS.**

5

Campo de la invención:

La presente invención consiste en proporcionar un nuevo método de tratamiento y
10 prevención del Síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (PRRS por sus siglas en
inglés) a base de la administración parenteral de inmunoglobulinas obtenidas de la yema
de huevo provenientes de gallinas hiperinmunizadas con el virus de PRRS.

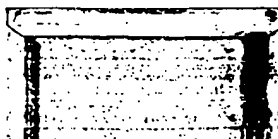
Antecedentes de la invención.

15

El Síndrome respiratorio y reproductivo del cerdo (Porcine Reproductive and Respiratory
Syndrome en inglés) es una enfermedad severa en los cerdos, la cual fué reportada en
los Estados Unidos en 1987 y posteriormente se identificó en muchos otros países
europeos. En 1991 Holanda reportó el aislamiento del agente etiológico llamándole virus
20 Lelystad y debido a la sintomatología que presentaban los cerdos se le conocía como
Síndrome respiratorio y/o aborto epidémico del cerdo (Porcine Epidemic Abortion and
Respiratory Syndrome en inglés)

Existen dos formas de protección contra agentes infecciosos en los animales: se les
puede exponer a antígenos derivados de un agente infeccioso para estimular una
25 reacción inmunitaria protectora o bien se les puede administrar un anticuerpo preformado
que se haya obtenido de algún sujeto inmune. La primera forma se logra por medio de
vacunas que pueden ser de diferentes clases: virus o bacterias vivas liofilizadas, virus o
bacterias muertas en emulsiones oleosas, y recientemente la creación de vacunas
clonadas y recombinantes. Cada una de ellas presentan ventajas y desventajas en
30 cuanto protección, respuesta inmune y duración de la protección. Además, en algunos
casos se presentan lesiones indeseadas en el huésped a causa del virus vacunal
(Tizard, I.R. 1998)

La segunda forma de protección también llamada inmunidad pasiva involucra la
transmisión de anticuerpos específicos contra agentes infecciosos a un huésped.



Tradicionalmente, a nivel investigación, los anticuerpos son elaborados principalmente en mamíferos y en menor frecuencia en aves. Los tipos de anticuerpos que se elaboran son monoclonales y policlonales en mamíferos y policlonales en aves (Larsson, et al 1993)

- 5 En el caso de las aves, el pollo es la única especie de la cual se obtienen anticuerpos en forma más accesibles y altamente definido. El principal anticuerpo sérico presente en el pollo es la IgG aunque la IgG es transportada al huevo de una manera similar a la transferencia de la IgG de mamíferos a través de la placenta.

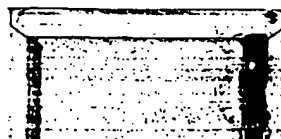
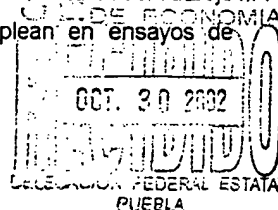
- 10 En el huevo la IgG se encuentra en mayores concentración en la yema, no obstante se encuentran pequeñas cantidades de IgG en la clara; e incluso sus cantidades son mayores en la yema que en el suero de la gallina (Larsson, et al. 1993)

- Para darse una idea de la cantidad de anticuerpos elaborados en gallina se tiene que una ponedora produce aproximadamente de 5 a 6 huevos por semana con un volumen de yema de aproximadamente de 15 ml, por lo tanto, en una semana una gallina produce 15 anticuerpos en yema equivalente a 90-100 ml de suero o 180-200 ml de sangre completa. Esto podría compararse con los 20 ml de sangre completa que otorga un conejo inmunizado por semana. Obviamente si se utiliza animales más grandes como caballos o vacas la cantidad de suero y de anticuerpos es mayor que en el huevo pero es más costoso y más doloroso para los animales.

- 20 Entre sus ventajas los anticuerpos de yema de huevo de gallina se encuentran:

1. No fijan el complemento
2. No se unen a la Proteína A de *Staphylococcus aureus*
3. No reacciona con el Factor Reumatoide
4. Debido a su diferencia filogenética con los anticuerpos de mamíferos la IgG no muestra reacción cruzada con los anticuerpos de mamíferos.
- 25 5. Bajo costo de obtención

- En años recientes se han empleado anticuerpos de yema de huevo (Inmunoglobulinas) como herramientas de diagnóstico y terapia (Schmidt, et al. 1989). Es así que aprovechando su diferencia filogenética con las inmunoglobulinas de mamíferos, las Ig's han presentado varias ventajas cuando se han usado en inmunodiagnóstico. Por ejemplo, 30 las Ig's de yema se han empleado para detectar varios virus mediante las técnicas de ELISA, inmunodifusión, inmunofluorescencia y fijación de complemento. Dado su bajo punto isoeléctrico comparado con la Ig de humanos, se emplean en ensayos de



electroforesis para la cuantificación de inmunoglobulinas en suero de varios animales (Altschuh, D. 1984, Larsson, et al. 1988, Larsson, et al. 1992, Larsson, et al. 1993, Schade, R. 1996).

- En cuanto a su aplicación terapéutica, las Ig's se han empleado como inmunoterapia en diferentes campos de la ciencia como por ejemplo la administración de inmunoglobulinas de yema de huevo por vía oral ha prevenido infecciones por rotavirus en ratones, bovinos, y cerdos entre otros (Ikemori, et al. 1992, Kuroki, et al. 1994, Marquardt, et al. 1998). Asimismo se han empleado como antivenenos contra víboras y escorpiones los cuales se pueden inyectar para neutralizar las toxinas sin riesgo de las reacciones anafilácticas comunes encontradas con los antivenenos elaborados en caballo (Larsson, et al. 1993)

Una aplicación más ha sido para prevenir la caries en humanos provocada por *Streptococcus mutans* (Hatta, H. Et al 1984)

15 **Objetos, usos y ventajas de la presente invención**

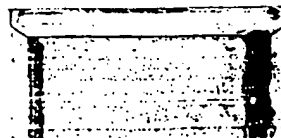
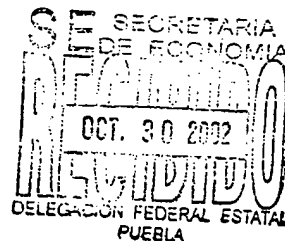
- Un objeto de la presente invención, es el de proporcionar un método de prevención y tratamiento del PRRS, mediante la administración parenteral de inmunoglobulinas específicas contra el agente causal, obtenidas de la yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas con uno o más virus de PRRS y su posterior demostración de su presencia en la sangre de los animales tratados..

Otro objeto de la invención es proporcionar ganancia en peso de los animales tratados con inmunoglobulinas específicas contra PRRS

- Aún más, dentro de la invención, se reclama el uso de las inmunoglobulinas de yema de huevo contra PRRS para eliminar o reducir sustancialmente la signología y mortalidad, transmisión y prevención del virus de PRRS en animales tratados

Finalmente, la invención se dirige a un procedimiento para preparar un producto a base de inmunoglobulinas específicas contra PRRS obtenidas a partir de yema de huevo.

- Por medio de la práctica de la invención, se disminuye la diseminación del virus causante del PRRS, además de que se mejoran los parámetros productivos de los animales. Las inmunoglobulinas obtenidas en solución acuosa se administran en forma parenteral por inyección profunda.



Descripción detallada de la invención

Los detalles característicos de esta novedosa invención se muestran claramente en la siguiente descripción y en las figuras que la acompañan.

5

La presente invención se fundamenta en el hecho de que las inmunoglobulinas extraídas de la fase acuosa de la yema de huevo otorgan protección contra enfermedades virales y bacterianas.

10

Programa de inmunización de gallinas.

Para la obtención de inmunoglobulinas (Igs) específicas contra el PRRS es necesario contar con un calendario de vacunación en una parvada de aves tipo SPF (Specific Pathogens Free).

15

El calendario de vacunación se realizó de la siguiente forma: Se administró una dosis (0.5 ml), de una vacuna emulsionada tipo agua en aceite (70 % aceite y 30 % agua) conteniendo virus de PRRS inactivado, a cada una de las gallinas de 8 semanas de edad por vía subcutánea en el tercio posterior medio del cuello. El programa completo de vacunación incluyó 2 revacunaciones, con una diferencia de 4 semanas con respecto a la última vacunación ; es decir, a las 12 y 16 semanas de edad.

20

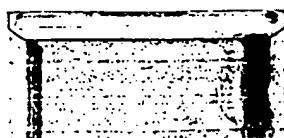
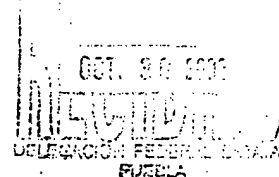
Extracción de las inmunoglobulinas de la yema

Existen diferentes métodos de extracción de Igs a partir de la yema de huevo, en esta invención se utilizó el método de Yokoyama (Yokoyama, H. et al 1993.) con la modificación de que no se utilizó el Avid AL

25

En forma resumida el proceso fue el siguiente . La extracción de los anticuerpos de la yema consistió de dos pasos . En el primer paso la yema se diluyó 1:8 (libre de clara) con azida de sodio al 0.0001 % y se almacenó en refrigeración por lo menos durante 24 hrs. Posteriormente se separó el sobrenadante y se agregó Hidroxipropilmetilcelulosaftalato (HPMCP) al 5 % en proporción de 0.25 ml por cada 100 ml de yema. Se dejó reposar por lo menos 24 hrs y se separó la capa de lípidos que se formó en la parte superior de la solución. Se filtró y se envasó . Las pruebas de control de calidad incluyen :

30



1.Prueba de esterilidad (verificar que el producto está libre de contaminación por bacterias, hongos y levaduras de acuerdo a 9 Code of Federal Regulations de los Estados Unidos de América.

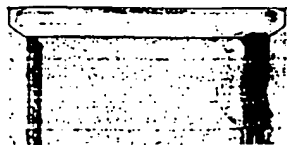
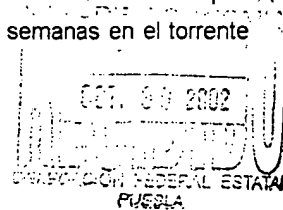
- 2.Cuantificación de anticuerpos contra PRRS. Se utiliza la técnica de micro virus suero neutralización método beta (dilución de muestra virus constante), utilizando microplacas de 96 concavidades de fondo plano y cultivo de células MA104. Las inmunoglobulinas son diluidas desde 1: 40 hasta 1:10240 en la microplaca utilizando medio 199 como diluyente , se agregan 200 DICT 50 (Dosis infectivas en cultivo de tejidos) de virus de PRRS, se deja incubar a 37 °C durante 30 minutos y se transfiere la mezcla a una monocapa de células MA104 de 24 horas de incubación, dejando incubar por 4-5 días a 37 °C y 5 % de CO₂. Un titulo satisfactorio se considera a partir de 1:40.

Enseguida se presentan pruebas a manera de ejemplo no limitativos, que demuestran el uso de las inmunoglobulinas contra PRRS en lechones objeto de esta invención.

15 **Ejemplo 1.**

- Se colocaron 3 cerdas de 50 días de edad con un peso aproximado de 20 kg en corrales de 2 x 2 m , identificadas en forma individual. A una de ellas se les administró una dosis de Ig contra PRRS (5 ml) equivalentes a una dosis de 0.4 ml por kg de peso, por vía intramuscular . A otra cerda se le administró el doble de la dosis de Ig contra PRRS (10 ml) por la misma vía. La tercera cerda permaneció como control sin tratamiento. Antes de la aplicación de las inmunoglobulinas las tres cerdas fueron sangradas para determinar los anticuerpos contra el PRRS mediante la prueba de MNT para PRRS. Durante 4 semanas posteriores al tratamiento, las cerdas fueron sangradas y se les determinó los niveles de anticuerpos otorgados por las inmunoglobulinas mediante la prueba de MNT contra PRRS en células MA 104. También se evaluaron las lesiones en el sitio de aplicación y cualquier signo sugestivo de la enfermedad

- La figura 1 presenta los resultados obtenidos en los cerdos inmunizados. Se puede observar que con los dos tratamientos empleados de inmunoglobulinas se obtuvieron niveles altos de anticuerpos contra PRRS en la primera semana después del tratamiento y que después existe una disminución de manera drástica, pero aún más altos que el cerdo control. Lo que indica que la vida media de los anticuerpos suministrados por la invención permanecen por un lapso de 3 semanas en el torrente sanguíneo.



Ejemplo 2.

Se utilizaron 452 lechones de aproximadamente 7 kg de peso y se les administró una dosis de Igs por vía intramuscular, repitiendo la dosis a las dos semanas después de la primera dosis. Por otro lado se tuvieron 420 lechones sin tratamiento, los cuales se mantuvieron como control. Los parámetros a evaluar fueron la ganancia en peso, la presencia del virus mediante la prueba de PCR y ELISA para PRRS y porcentaje de mortalidad.

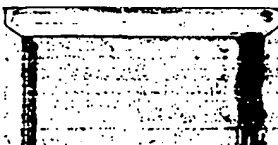
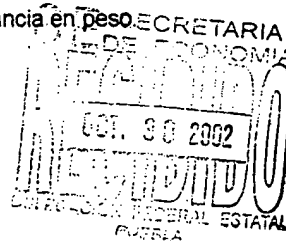
La tabla 1 muestra los parámetros de ganancia en peso y mortalidades en ambos grupos.

Lo que se observó fue que el grupo tratado no tuvo una ganancia en peso como se esperaba con relación al grupo control, pero si hubo una reducción del porcentaje de mortalidad de los cerdos en el grupo tratado con Inmunoglobulinas. De igual forma la prueba de PCR mostró positividad en el grupo control a partir de la semana 4, mientras que en el grupo tratado con inmunoglobulinas la positividad se dio hasta la novena semana después del tratamiento con las inmunoglobulinas.

Tabla 1. Diferencias en los parámetros diferenciales entre el grupo tratado con Inmunoglobulinas contra PRRS y el grupo control.

	Grupo tratado con Inmunoglobulinas	Grupo Control
No de Animales	452	420
Peso inicial	6.17	6.05
Peso final	26.55	30.55
Mortalidad	19	53
% de Mortalidad	4.20	12.62

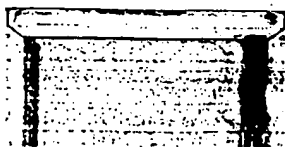
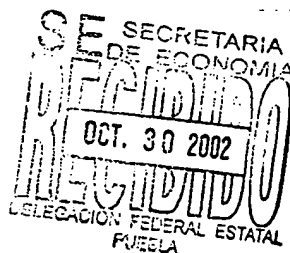
La figura 2 presenta los resultados obtenidos de la prueba de ELISA en sueros de los cerdos tratados y controles, mostrando que hubo una menor exposición de los cerdos al agente infeccioso en el grupo tratado con inmunoglobulinas en comparación con el grupo control, donde desde la quinta semana se detecta la presencia del virus. mortalidad de los cerdos tratados, así como la serología obtenida y la ganancia en peso.



REIVINDICACIONES

Al haber descrito la presente invención, ésta se considera como una novedad, por lo que se reclama lo contenido en las siguientes reivindicaciones.

- 5 1. El uso de inmunoglobulinas para el tratamiento de cerdos infectados con el virus de PRRS.
2. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 1, obtenidas por la vacunación exhaustiva de aves ponedoras ligeras tipo SPF con una vacuna inactivada de PRRS.
- 10 3. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 2 obtenidas por medio de la extracción de la fase acuosa de la yema de huevo
4. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 3, las cuales son obtenidas por el uso de azida de sodio a una concentración del 0.001 % e Hidroxipropilmetilcelulosaftalato a una concentración de 5 %, y cuyo título de anticuerpos para PRRS no debe ser menor de 1:80 por cada 0.050 ml
- 15 5. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 4, donde la cantidad utilizada para tratamiento de PRRS en cerdos no debe ser menor de 0.4 ml por kg de peso administradas por vía intramuscular.
6. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 5, donde son absorbidas y posteriormente se encuentran en el torrente sanguíneo de los animales tratados.
- 20 7. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 6, dan una protección contra el virus de PRRS cuando son administradas cada 2 semanas por vía intramuscular.
8. Las inmunoglobulinas de la reivindicación 7 disminuyen la mortalidad en los cerdos tratados.



RESUMEN

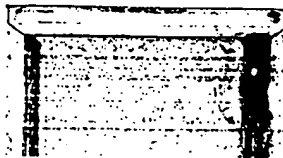
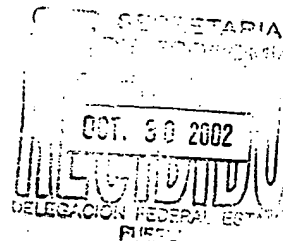
- 5 La presente invención está relacionada, con el uso de inmunoglobulinas obtenidas de la yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas con el virus de PRRS. Las inmunoglobulinas se obtienen por la extracción de la fase acuosa de la yema mediante el uso de Hidroxipropilmetilcelulosafalato a una concentración final de 0.05 % y azida de sodio al 0.001 % . La invención también se relaciona con la administración de estas
- 10 inmunoglobulinas para la prevención y tratamiento de cerdos infectados con el virus de PRRS, con la finalidad de disminuir las mortalidades, ganar peso y disminuir la excreción viral en los hatos.

15

20

25

30



BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5

Figura 1. Muestra la determinación de anticuerpos en el suero de cerdos tratados con dos dosis diferentes de inmunoglobulinas aplicadas por vía intramuscular.

10

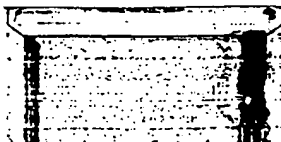
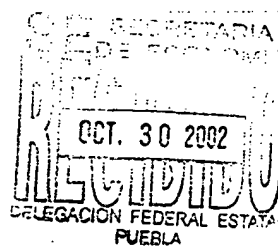
Figura 2. Muestra los resultados de la presencia de anticuerpos contra PRRS medidos por la prueba de ELISA en las cerdas tratadas y en el grupo control

15

20

25

30



5

BIBLIOGRAFÍA

Altschuh, D. et al. 1984. Determination of IgG and IgM levels in serum by Rocket Immuno-electrophoresis using yolk antibodies from immunized chickens. *J. Immunol. Methods.* 69:1-7

10

Hatta, H. et al. 1997. Passive Immunization Against Dental Plaque Formation in Humans: Effect of a Mouth Rinse containing Egg Yolk Antibodies (IgY) Specific to *Streptococcus mutans*. *Caries Res.* 31:268-274.

15

Ikemori, Y. et al. 1992. Protection of neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with k99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* 53:2005-2008.

20

Kuroki, M. et al. 1994. Passive protection against bovine rotavirus in calves by specific immunoglobulins from chicken egg yolk. *Arch. Virol.* 138: 143-148.

Larsson, A. et al. 1988. Chicken antibodies: a tool to avoid false positive results by rheumatoid factor in latex fixation tests. *J. Immunol. Methods.* 108:205-208.

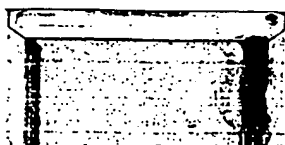
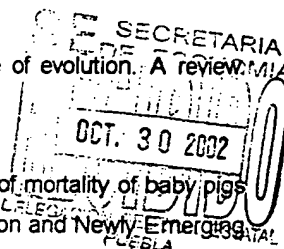
25

Larsson, A. et al. 1992. Chicken antibodies: a tool to avoid interference by complement activation in ELISA. *J. Immunol. Methods.* 156: 79-83.

Larsson, A. et al. 1993. Chicken antibodies: taking advantage of evolution. A review. *Poultry Sci.* 72: 1807-1812.

30

Marquart, R. 1998. Antibody-loaded eggs for piglets: prevention of mortality of baby pigs from diarrhea. *Proc. 2nd International Symposium on Egg Nutrition and Newly Emerging Ovo-Technologies.* Alberta, Canada.



Schade, R. et al 1996. The production of avian (Egg yolk) antibodies: IgY. *Atta*. 24:925-934.

Tizard, I.R. 1998. Vacunación y vacunas In: *Inmunología Veterinaria*. 5ª Ed. Mc Graw – Hill. pp285-305.

5

Yokoyama, H. et al . A two step procedure for purification of hen yolk immunoglobulin G: Utilization of Hydroxypropylmethylcellulose phtalate and syntetic affinity ligand gel (Avid AL®). *Poultry Sci*. 72:275-281.1993.

10

15

20

25

30

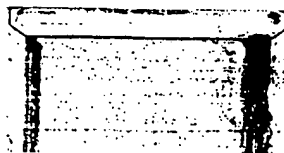
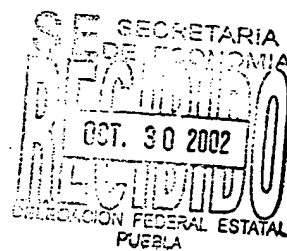
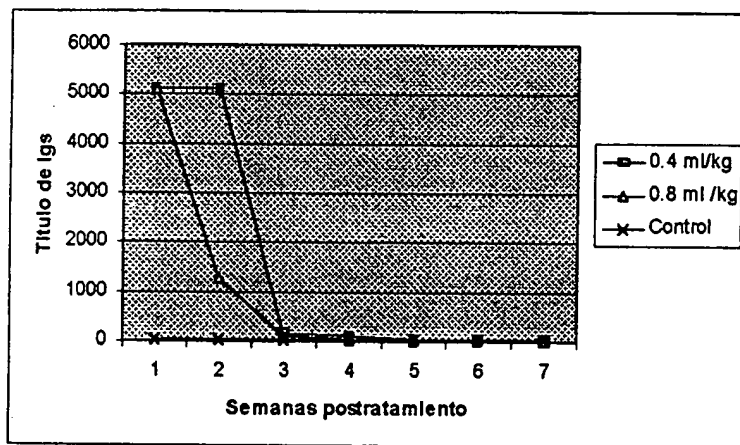


FIGURA 1



10

15

20

SECRETARIA
DE ECONOMIA
RECIBIDO
OCT. 30 2002
DELEGACION FEDERAL ESTATAL
PUEBLA

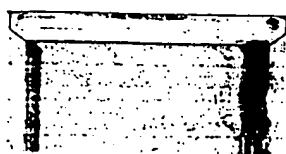
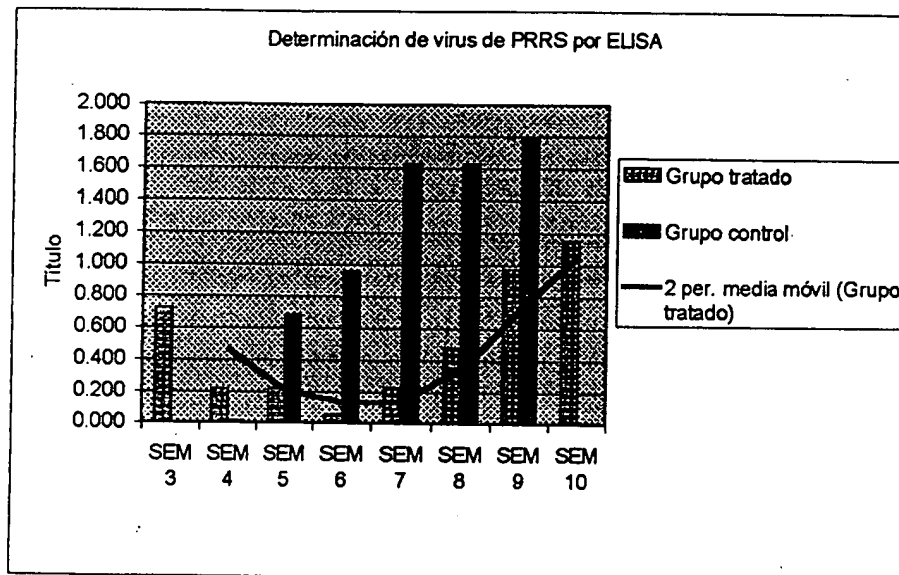


FIGURA 2

5



SE SECRETARIA
DE ECONOMIA
RECIBIDO
OCT. 30 2002
RECIBIDO
DELEGACION FEDERAL ESTATAL
PUEBLA